KENNIA MOURA SILVEIRA

**Avaliação do efeito tipo-antidepressivo da aradonoil
serotonina (AA-5HT) no teste do nado forçado**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de Ribeirão
Preto/USP para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos
Naturais e Sintéticos

Orientadora: Prof^a Dr^a Sâmia
Regiane Lourenço Joca

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 04/04/2018. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2018

RESUMO

SILVEIRA, K. M. **Avaliação do efeito tipo-antidepressivo da aradonoil serotonina (AA-5HT) no teste do nado forçado**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

A anandamida, um dos principais endocanabinóides estudados, além de se ligar aos receptores CB1, em altas doses, também é capaz de ativar os receptores vanilóides de potencial transitório tipo-1 (TRPV1). Evidências experimentais indicam que a sinalização mediada por CB1 facilita, enquanto TRPV1 prejudica, a resposta de adaptação a situações de estresse, tornando o animal mais susceptível a suas consequências comportamentais. Estudos demonstram que a inibição da enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), responsável pela hidrólise da anandamida, apresenta efeito tipo-antidepressivo, efeito este também observado quando administrado antagonista de TRPV1. Portanto, a ação combinada de inibição da FAAH e bloqueio de TRPV1 poderia ter potencial efeito antidepressivo. Diante destas evidências, o objetivo do presente trabalho foi investigar se a administração sistêmica de AA-5HT, droga que inibe a FAAH e bloqueia TRPV1, em camundongos submetidos ao teste do nado forçado, promove um efeito tipo-antidepressivo; e ainda, se esse comportamento estaria relacionado com a ativação de receptores canabinóides CB1 e com bloqueio dos receptores vanilóides TRPV1. Camundongos Swiss machos receberam injeção intraperitoneal de AA-5HT (0.1, 0.3, e 1 mg/kg), inibidor da FAAH (URB597 - 0.03, 0.1, 0.3, 1, e 3 mg/kg), antagonista TRPV1 (SB366791 - 0.03, 0.1, 0.3, 1 e 3 mg/kg) e antagonista CB1 (AM251 - 1 e 3 mg/kg) ou o veículo correspondente e, 30 minutos depois, os mesmos animais foram submetidos ao teste do campo aberto. Imediatamente após foram submetidos ao teste do nado forçado. O tratamento com AA-5HT na dose de 0.3mg/kg reduziu significativamente o tempo de imobilidade no teste do nado forçado, sem alterar a atividade locomotora. Por outro lado, as doses testadas de URB597, SB366791 e AM251 não reduziram significativamente o tempo de imobilidade quando comparadas ao grupo veículo. E ainda, não foi observada somação de efeito da coadministração de doses equipotentes e subefetivas de SB366791 e URB597 no teste do nado forçado. Por fim, a pré-administração do antagonista CB1 (AM251) não alterou o tempo de imobilidade de AA-5HT. Apesar disso, quando o AA-5HT foi pré-administrado com o veículo utilizado para diluir o AM251, apresentou aumento significativo no tempo de imobilidade quando comparado aos animais pré-tratados com salina, comprometendo assim a investigação sobre a participação dos receptores CB1 no efeito do AA-5HT. Sendo assim, nossos resultados sugerem que a administração sistêmica de AA-5HT produz um efeito tipo-antidepressivo no teste do nado forçado. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar o envolvimento dos receptores CB1 neste comportamento.

Palavras-chave: AA-5HT. Endocanabinóides. Teste do nado forçado. Camundongos.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Depressão

A depressão é um transtorno psiquiátrico que atinge 300 milhões de pessoas (WORD HEALTH ORGANIZATION), e, em 2030, será a doença mais debilitante (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Em todo o mundo, a depressão é o transtorno mental mais comum e a principal causa de incapacidade (WORD HEALTH ORGANIZATION).

O indivíduo depressivo apresenta humor deprimido na maior parte do tempo e perda de interesse em atividades antes prazerosas (anedonia), associados a alterações de peso e sono, agitação ou retardo motor, fadiga, culpa excessiva, dificuldade de concentração, indecisão e ideias recorrentes de suicídio ou morte. Segundo a 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014), para o paciente ser diagnosticado com Depressão Maior, ele deve apresentar, por um período mínimo de duas semanas, ao menos cinco dos sintomas citados, dentre eles humor deprimido e anedonia.

Os episódios depressivos são mais prevalentes em mulheres (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; KENDLER *et al.*, 2006; WORLD HEALTH ORGANIZATION), e seu risco de recorrência é maior em pacientes cujo episódio anterior foi grave, em indivíduos mais jovens e naqueles que já apresentaram múltiplos episódios (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Além do risco inerente de suicídio (WORLD HEALTH ORGANIZATION), indivíduos depressivos têm risco de morte cerca de 1,4 vezes maior do que a população geral, quando comparado a problemas físicos, como câncer, diabetes, e infecção por HIV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

A etiologia do transtorno depressivo consiste na combinação fatores ambientais (estresse) e genéticos (CASPI *et al.*, 2003; KENDLER; GARDNER, 2016, 2010; SAVEANU; NEMEROFF, 2012; SULLIVAN; NEALE; KENDLER, 2000). Na maioria dos casos, os episódios depressivos são precedidos por fatores estressantes, principalmente de origem psicossocial (KENDLER; KARKOWSKI; PRESCOTT, 1999; POST, 1992). Além disso, fatores genéticos

influenciam no desenvolvimento da depressão, tornando os indivíduos mais vulneráveis aos eventos estressantes (CASPI *et al.*, 2003; HABERSTICK *et al.*, 2016; KENDLER.; *et al.*, 2006; KENDLER.; GARDNER, 2016; POST, 1992).

Evidências demonstram que o estresse promove a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), no qual o hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a produção e liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Este, por sua vez, faz o córtex da adrenal produzir e secretar glicocorticoides: corticosterona em roedores e cortisol em humanos (GORZALKA; HILL; HILLARD, 2008; HILL, MATTHEW N.; MCEWEN, 2010). A exposição prolongada a níveis elevados, como ocorre na exposição ao estresse crônico, podem induzir disfunções em circuitos límbicos e predispor ao desenvolvimento de distúrbios afetivos (GORZALKA; HILL; HILLARD, 2008).

Além de alterações endócrinas, animais de laboratório expostos a fatores estressantes não controláveis apresentam alterações comportamentais, neurofisiológicas e neuroquímicas, as quais são sensíveis ao tratamento com drogas antidepressivas (YAN *et al.*, 2010). Por essa razão, muitos modelos animais utilizados para estudo da neurobiologia da depressão e identificação de drogas antidepressivas, baseiam-se na avaliação das alterações comportamentais induzidas pela exposição ao estresse e a reversão destas pelo tratamento com drogas antidepressivas (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; YAN *et al.*, 2010).

1.2 Modelos preditivos de efeitos antidepressivos

Os modelos animais são ferramentas importantes na busca de novos alvos terapêuticos, bem como no estudo da etiologia do transtorno depressivo (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013). A depressão é uma doença caracterizada principalmente por sintomas psicológicos, logo é impossível que um modelo consiga mimetizar os sentimentos humanos em animais (CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002). Por essa razão, os modelos animais de depressão utilizam comportamentos e características específicas que possam ser observadas, quantificadas e reproduzidas (DUMAN, 2010).

Um modelo animal de depressão ideal deve apresentar três critérios principais: validade de face, validade de constructo e validade preditiva (SLATTERY; CRYAN, 2012). A validade de face requer que o animal submetido a uma determinada situação experimental apresente comportamentos semelhantes aos sintomas observados em pacientes depressivos, como a anedonia (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; POLLAK; REY; MONJE, 2010). A validade de constructo consiste na semelhança com a etiologia da doença, ou seja, nos mecanismos neurobiológicos que levam aos sintomas, como a alteração do eixo HPA (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; DUMAN, 2010; YAN *et al.*, 2010). E por fim, a validade preditiva requer que os tratamentos antidepressivos eficazes na clínica sejam capazes de reverter as alterações comportamentais induzidas pela situação experimental em questão (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; POLLAK; REY; MONJE, 2010).

Além dos modelos animais, existem também os testes comportamentais. Um modelo animal possui características semelhantes a patologia humana (validade de face), inclusive com aspectos fundamentais de sua patofisiologia (validade de construto), tentando mimetizar o transtorno psiquiátrico (POLLAK; REY; MONJE, 2010). Já o teste providencia um “endpoint”, ou seja, um comportamento ou característica que pode ser mensurada e manipulada geneticamente ou farmacologicamente (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; YAN *et al.*, 2010). Portanto, os testes geralmente não preenchem adequadamente os critérios de validade de face e construto, mas apresentam boa validade preditiva, como é o caso do teste do nado forçado, que foi empregado neste estudo.

Tabela 1 – Exemplos de modelos animais e testes comportamentais empregados no estudo da neurobiologia da depressão e identificação de novos antidepressivos

Testes preditivos de efeitos antidepressivos	Estressor	Validade	Reprodutibilidade	Vantagens	Limitações	Referências
Teste do nado forçado	Natação forçada	Preditiva	Alta	Baixo custo, alta confiabilidade, fácil execução, pode ser realizado com ratos e camundongos	Responde ao tratamento agudo com antidepressivos, falha em responder a ISRS, depende da função motora	CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002; SLATTERY; CRYAN, 2014, 2012
Teste de suspensão pela cauda	Suspensão	Preditiva	Alta	Baixo custo, alta confiabilidade, fácil execução	Responde ao tratamento agudo com antidepressivos, realizado apenas com camundongos, depende da função motora	CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005; SLATTERY; CRYAN, 2014
Modelos animais de depressão envolvendo a apresentação de estresse						
Estresse crônico variado	Diferentes estressores	Preditiva, Constructo, Face	Baixa	Responde apenas ao tratamento crônico com antidepressivo, pode ser realizado com ratos e camundongos	Difícil execução e baixa confiabilidade	ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; SLATTERY; CRYAN, 2014
Privação materna	Privação materna	Preditiva, Constructo, Face	Baixa	Estresse precoce aumenta probabilidade de desenvolver depressão em humanos, déficit de recompensa	Baixa confiabilidade, baixa reprodutibilidade	ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; SLATTERY; CRYAN, 2014
Desamparo Apreendido	Choques inescapáveis	Preditiva, Constructo, Face	Alta	Não responde ao tratamento agudo, pode ser realizado com ratos e camundongos	Custo moderado, alguns animais não desamparam, restrições éticas em alguns países	ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002; SLATTERY; CRYAN, 2014

1.2.1 Teste do nado forçado

O teste do nado forçado (*forced swim test*, FST), proposto por Porsolt e colaboradores (1977), tem sido amplamente empregado para a triagem de drogas antidepressivas e seus mecanismos de ação (CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002).

O teste consiste em submeter o animal em uma situação inescapável de estresse, a natação forçada. Após um período de atividade vigorosa, o animal fica imóvel, fazendo apenas movimentos necessários para manter a cabeça fora d'água. Os resultados obtidos com esse teste demonstraram que tratamento com antidepressivos diminui o tempo de imobilidade, e que fármacos ansiolíticos ou antipsicóticos não o afetam. A diminuição da imobilidade também pode ser observada em resposta a tratamentos antidepressivos não farmacológicos, como eletrochoque (PORSOLT *et al.*, 1978). Drogas psicoestimulantes, no entanto, podem induzir resultado falso-positivo no modelo ao diminuírem o tempo de imobilidade como consequência do aumento na atividade locomotora. Portanto, a diminuição da imobilidade reflete um efeito tipo-antidepressivo no modelo quando isso ocorre independente de efeitos em testes que avaliam a atividade locomotora, como a exploração no teste do campo aberto (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; YAN *et al.*, 2010; YIN; GUVEN; DIETIS, 2016). Em conjunto, esses dados suportam a elevada validade preditiva do modelo proposto (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; YAN *et al.*, 2010).

Dentre as vantagens na utilização do FST estão baixo custo, fácil execução, alta confiabilidade e reprodutibilidade (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; PARONE *et al.*, 2013; SLATTERY; CRYAN, 2012), e a possibilidade de ser realizado tanto em ratos quanto em camundongos, embora com protocolos experimentais diferentes (ABELAIRA; RÉUS; QUEVEDO, 2013; SLATTERY; CRYAN, 2012). E sua principal limitação é a de responder ao tratamento agudo com drogas antidepressivas, comprometendo assim sua validade preditiva (DUMAN, 2010; POLLAK; REY; MONJE, 2010; SLATTERY; CRYAN, 2014, 2012; YAN *et al.*, 2010).

1.3 Sistema endocanabinóide e depressão

O sistema endocanabinóide foi descrito apenas na década de 1990, porém as propriedades da *Cannabis sativa* já eram conhecidas a milhares de anos devido ao uso, terapêutico e recreativo (DI MARZO, 2006). No entanto, a investigação sobre esse sistema tornou-se possível apenas a partir de 1964, quando Mechoulam e colaboradores identificaram o principal composto psicoativo da Cannabis, o Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (DI MARZO, 2006; FOWLER, 2015; KANO, 2009).

O sistema endocanabinóide possui dois principais receptores, CB1 (HERKENHAM *et al.*, 1991) e CB2 (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993), ambos acoplados a proteína G (HOWLETT *et al.*, 2002). Os receptores CB1 estão expressos em todo o cérebro (HERKENHAM *et al.*, 1991) e são responsáveis pela maioria dos efeitos comportamentais dos canabinóides (KANO, 2009; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010). Já os receptores CB2 estão localizados principalmente no sistema imune periférico (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993), apesar de também estarem expressos nos neurônios e nas micróglias (ONAIVI *et al.*, 2006, 2008). Os principais, e mais estudados, agonistas endógenos (endocanabinóides) destes receptores são a aracdonoil etanolamina (anandamida) (DEVANE *et al.*, 1992) e o 2-aracdonoil glicerol (2-AG) (SUGIURA *et al.*, 1995).

Os endocanabinóides são neurotransmissores atípicos, sendo, portanto, sintetizados “sob demanda” e não armazenados em vesículas. Sua síntese ocorre nos neurônios pós-sinápticos, após o influxo de cálcio e ativação das fosfolipases, que convertem os fosfolipídios em endocanabinóides. Em seguida, são liberados e, de maneira retrógrada, ativam os receptores canabinóides, localizados na membrana pré-sináptica. A ativação de CB1 leva a diminuição do influxo de cálcio, reduzindo assim a liberação do neurotransmissor (Fig. 1) (MCLAUGHLIN; HILL; GORZALKA, 2014; MOREIRA. *et al.*, 2015; ROSS *et al.*, 2001). Dessa forma, o sistema endocanabinóide é capaz de modular a neurotransmissão de sinapses tanto inibitórias quanto excitatórias, dependendo da localização do receptor (MOREIRA; LUTZ, 2008). A ação dos endocanabinóides é limitada por sua internalização e pelo catabolismo hidrolítico. As enzimas amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e monoacilglicerol lipase são as principais responsáveis pela hidrólise da

anandamida e 2-AG, respectivamente (Fig. 1) (MCLAUGHLIN; HILL; GORZALKA, 2014; MOREIRA *et al.*, 2015).

Figura 1 – Modulação do sistema endocanabinóide. A liberação de neurotransmissores, por exemplo glutamato, promove o influxo de cálcio, o qual estimula a produção dos endocanabinóides, anandamida (AEA) e 2-aracidoil glicerol (2-AG). Em seguida, são liberados e, de maneira retrógrada, ativam os receptores canabinóides, localizados na membrana pré-sináptica. A ativação de CB1 leva a diminuição do influxo de cálcio (Ca^{2+}), ativa canais potássio (K^+), e reduz a liberação do neurotransmissor. Em altas concentrações, a anandamida também é capaz de ativar os receptores vanilóides de potencial transitório tipo-1 (TRPV1), o que promove o influxo de Ca^{2+} e facilita a liberação de neurotransmissores. A ação dos endocanabinóides é limitada por sua internalização e pelo catabolismo hidrolítico. As enzimas amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), e monoacilglicerol lipase (MGL) são as principais responsáveis pela hidrólise da anandamida e 2-AG, respectivamente. A anandamida é principalmente hidrolisada em ácido aracdônico (AA) e etanolamina (EA), e o 2-AG em ácido aracdônico e glicerol.

A primeira evidência clínica da relação entre o sistema endocanabinóide e os transtornos emocionais ocorreu em 2007, em um estudo publicado na revista *Lancet*, no qual Christensen e colaboradores (2007) testaram uma nova droga “anti-obesidade”, o Rimonabanto, um antagonista/agonista inverso dos receptores CB1. Os pesquisadores observaram que pacientes tratados com esta droga tinham mais chances de interromperem o tratamento devido ao desenvolvimento do transtorno depressivo, ansiedade e também por apresentarem maior risco de suicídio (CHRISTENSEN *et al.*, 2007). Topol e colaboradores (2010) precisaram reduzir o período de triagem devido aos graves efeitos colaterais psiquiátricos do Rimonabanto, que neste caso, resultou em 4 suicídios.

Desde de então, dados da literatura têm corroborado a íntima relação do sistema endocanabinóide com a neurobiologia da depressão. Em estudos pré-clínicos, roedores tratados com agonista de receptores CB1 apresentaram um efeito tipo-antidepressivo no teste do nado forçado (HILL, MATTHEW N.; GORZALKA, 2005; MCLAUGHLIN, RYAN J. *et al.*, 2007). Além disso, a administração de inibidores da enzima FAAH, ou a ausência da mesma (BAMBICO, FRANCIS RODRIGUEZ *et al.*, 2010; GOBBI *et al.*, 2005), também promove efeito tipo-antidepressivo, efeito este revertido pela administração de um antagonista de receptores CB1 (ADAMCZYK *et al.*, 2008; BORTOLATO *et al.*, 2007; GOBBI *et al.*, 2005; HILL, MATTHEW N.; GORZALKA, 2005). Por outro lado, a deleção da expressão de CB1 acentua a redução da ingestão de sacarose em animais expostos ao estresse crônico moderado, sugerindo um aumento da susceptibilidade destes animais ao desenvolvimento de consequências comportamentais do estresse (MARTIN *et al.*, 2002). Em conjunto, esses dados sugerem que a facilitação do sistema endocanabinóide e consequente ativação de receptores CB1 promove adaptação ao estresse e efeito tipo-antidepressivo em modelos animais.

Nesse contexto, é possível esperar que a depressão esteja associada a prejuízos nessa via de neurotransmissão. De fato, estudos realizados em humanos demonstraram que o polimorfismo de um único nucleotídeo no receptor CB1 aumenta a vulnerabilidade para o desenvolvimento da depressão e o risco de resistência ao tratamento antidepressivo (DOMSCHKE *et al.*, 2008; JUHASZ

et al., 2009). Além disso, pessoas diagnosticadas com depressão maior, apresentam uma redução nos níveis circulantes de endocanabinóides (HILL *et al.*, 2010, 2012), sugerindo assim que a deficiência na sinalização endocanabinóide pode levar ao desenvolvimento da depressão (HILL, MATTHEW N. *et al.*, 2009). Para revisão detalhada sobre o assunto, ver MORENA *et al.*, 2016.

A anandamida, além de se ativar os receptores CB1, também é capaz de se ligar e ativar os receptores vanilóides de potencial transitório tipo-1 (TRPV1) (ROSS, 2003; STAROWICZ; NIGAM; DI MARZO, 2007). Estudos indicam que esse receptor também está envolvido com respostas comportamentais ao estresse, conforme descrito a seguir.

1.3.1 Receptores vanilóides de potencial transitório tipo-1 (TRPV1)

Os receptores vanilóides de potencial transitório tipo-1 (TRPV1) são canais iônicos não seletivos pertencentes a família dos receptores de potencial transitório (STAROWICZ; NIGAM; DI MARZO, 2007; TÓTH; BLUMBERG; BOCZÁN, 2009) e estão presentes em diversas regiões do sistema nervoso central de roedores, como hipocampo, córtex, cerebelo, bulbo olfatório, entre outras (CRISTINO *et al.*, 2006; TÓTH *et al.*, 2005).

A anandamida é agonista pleno nos receptores TRPV1, e sua ligação promove o influxo de cálcio e consequente despolarização da célula em que se encontra; sendo assim ativação de receptores TRPV1 parece promover efeitos opostos aos de CB1, geralmente facilitando a liberação de neurotransmissores (Fig. 1) (ROSS, 2003; STAROWICZ; NIGAM; DI MARZO, 2007; TÓTH; BLUMBERG; BOCZÁN, 2009).

Evidências em estudos pré-clínicos demonstram que o tratamento com agonista de receptores TRPV1 promoveu um efeito tipo-depressivo no teste do nado forçado (ABDELHAMID *et al.*, 2014), enquanto animais tratados com um antagonista destes receptores apresentaram efeito tipo-antidepressivo no mesmo teste (NAVARRIA *et al.*, 2014; SARTIM; MOREIRA; JOCA, 2016; SOCAŁA; WLAŻ, 2016). Efeito semelhante ao dos antagonistas foi observado em camundongos *knockouts* para TRPV1 (YOU *et al.*, 2012). Portanto, a

ativação de TRPV1 parece prejudicar a adaptação ao estresse inescapável, enquanto a ativação de receptores CB1 parece induzir efeitos contrários.

Em 2008, Rubino e colaboradores relataram evidências importantes sobre a relação da anandamida com os receptores CB1 e TRPV1. Os pesquisadores administraram um análogo da anandamida, a meta-anandamida, no córtex pré-frontal de ratos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, e observaram que, na menor dose testada (0,1µg), a droga promoveu um efeito tipo-ansiolítico, o qual foi mediado por receptores CB1, pois foi bloqueado pelo pré-tratamento com o antagonista AM251. Já na maior dose administrada (10µg), foi observado um efeito tipo-ansio gênico, o qual foi bloqueado pelo antagonista TRPV1 (capsazepina) (RUBINO *et al.*, 2008). Para explicar esses resultados, foi sugerido que em baixas concentrações a anandamida interage preferencialmente com CB1, promovendo assim efeito tipo-ansiolítico; já em altas concentrações, ativa também TRPV1, promovendo efeito ansio gênico (MOREIRA *et al.*, 2012). De maneira semelhante, dados ainda não publicados do laboratório demonstraram que a administração de anandamida no córtex pré-frontal medial (CPFm) promoveu efeito tipo-antidepressivo em menores doses, o qual foi sensível ao bloqueio com antagonista de receptores CB1; enquanto o efeito da anandamida não foi observado em doses maiores devido à ativação de receptores TRPV1. Portanto, parece haver um equilíbrio fino entre a ativação de CB1 e TRPV1 pela anandamida, durante situações de estresse, a fim de favorecer respostas de adaptação. No entanto, níveis muito baixos de anandamida, com insuficiente ativação de CB1, ou níveis excessivamente elevados desse neurotransmissor, com predomínio de ativação de TRPV1, poderiam prejudicar a adaptação ao estresse e facilitar o desenvolvimento de consequências comportamentais. Isso explicaria a curva dose-resposta em forma de sino (ou U invertido), observada após administração de doses crescentes de inibidores da FAAH ou da própria anandamida, em animais expostos a diferentes situações experimentais (BORTOLATO *et al.*, 2006; MOREIRA; AGUIAR; GUIMARÃES, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2009; RUBINO *et al.*, 2008).

Sendo assim, uma droga capaz de aumentar os níveis endógenos de anandamida, inibindo a FAAH, e ao mesmo tempo antagonizar TRPV1,

provavelmente favoreceria a resposta adaptativa ao estresse e induziria efeitos antidepressivos. Nesse contexto, a droga aracdonoil serotonina, uma droga que possui ambos os mecanismos (BISOGNO *et al.*, 1998; MAIONE *et al.*, 2007), apresenta um perfil farmacológico interessante para ser estudada com potencial fármaco antidepressivo, tendo sido objeto de estudo no presente trabalho.

1.3.2 Aracdonoil serotonina (AA-5HT)

Aracdonoil serotonina (AA-5HT) foi descrita pela primeira vez em 1998, por Bisogno e colaboradores, durante um *screening* de novas moléculas com a capacidade de inibir a FAAH. Naquele momento, o AA-5HT, derivado sintético do ácido aracdônico, foi descrito apenas como um potente inibidor da FAAH (BISOGNO *et al.*, 1998; FOWLER *et al.*, 2003), que não ativa receptores CB1 (BISOGNO *et al.*, 1998). Apenas em 2007 seu segundo mecanismo de ação foi descrito: antagonista competitivo dos receptores TRPV1 (MAIONE *et al.*, 2007).

A administração sistêmica, aguda e repetida, de AA-5HT promove o aumento nos níveis dos endocanabinóides, anandamida e 2-AG (DE LAGO *et al.*, 2005; MICALE *et al.*, 2009), aumento este que permanece por até 12h após a última administração (DE LAGO *et al.*, 2005), demonstrando assim sua eficácia em inibir a FAAH.

E ainda, dados na literatura demonstram que o AA-5HT é capaz de produzir efeito analgésico, anti-inflamatório, anticonvulsivante, tipo-antidepressivo, tipo-ansiolítico e tipo-antiaversivo; efeitos estes mediados pela ativação dos receptores CB1 (COSTA *et al.*, 2010; GOBIRA *et al.*, 2017; JOHN; CURRIE, 2012; KIRKEDAL *et al.*, 2017; MAIONE *et al.*, 2007; MICALE *et al.*, 2009; NAVARRIA *et al.*, 2014; ORTAR *et al.*, 2007; SARTIM; MOREIRA; JOCA, 2016; VILELA *et al.*, 2014).

A administração de AA-5HT no CPFm de ratos promoveu efeito tipo-antidepressivo no teste do nado forçado, efeito este revertido pelo bloqueio dos receptores CB1 (KIRKEDAL *et al.*, 2017; SARTIM; MOREIRA; JOCA, 2016), e mimetizado pela coadministração, em doses subefetivas, de um inibidor da FAAH e um antagonista TRPV1 (SARTIM; MOREIRA; JOCA, 2016). Sartim e colaboradores (2016) sugeriram, ainda, que o efeito de AA-5HT pode ser devido

tanto pela inibição da hidrólise da anandamida, com posterior ativação de CB1, como também devido ao bloqueio de TRPV1, já que o efeito promovido pelo antagonismo de TRPV1 não foi alterado pelo bloqueio de CB1. Fogaça e colaboradores (2012) demonstraram, por imunohistoquímica, que os receptores CB1 e TRPV1 estão estreitamente expressos na mesma região do CPFm pré-límbico, localizados pré e pós-sinapticamente, respectivamente; proporcionando assim um suporte anatômico para o mecanismo de ação de AA-5HT.

O efeito tipo-antidepressivo de AA-5HT no teste do nado forçado também foi demonstrado quando administrado sistemicamente. Entretanto, este efeito foi observado apenas em ratos Wistar estressados (submetidos a 4h de estresse de restrição) e os mecanismos de ação da droga não foram explorados (NAVARRIA *et al.*, 2014). Além disso, não existe a informação de que, sistemicamente, tanto a inibição da FAAH quanto o bloqueio de TRPV1 são importantes para este efeito, ou seja, não se sabe ainda se o mecanismo sistêmico é semelhante ao que ocorre no córtex pré-frontal medial. Portanto, há necessidade de confirmação do potencial efeito antidepressivo da AA-5HT em testes preditivos de efeito antidepressivo, bem como estudo dos mecanismos envolvidos nos seus efeitos comportamentais.

1.4 Hipótese

A hipótese do presente trabalho é que a administração sistêmica de AA-5HT promove efeito tipo-antidepressivo em camundongos submetidos ao teste do nado forçado; e ainda, que este efeito está relacionado com a ativação dos receptores CB1 e com o bloqueio dos receptores TRPV1.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

A administração sistêmica de AA-5HT, na dose de 0,3mg/kg, reduziu significativamente o tempo de imobilidade de camundongos Swiss submetidos ao teste do nado forçado, demonstrando assim o efeito tipo-antidepressivo da droga, neste teste. Entretanto, os resultados deste estudo não foram suficientes para avaliar se ambos os mecanismos de ação da droga, antagonismo de receptores TRPV1 e inibição da enzima FAAH, são necessários para o efeito tipo-antidepressivo da mesma; bem como se este efeito é mediado por receptores CB1.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O presente trabalho possui limitações que devem ser levadas em consideração quando forem discutidos e interpretados os resultados obtidos:

1) Ausência de controle positivo: diante da ausência de efeito da maioria das drogas, e da oscilação de efeito tipo-antidepressivo do AA-5HT, durante os experimentos deveria ter sido empregado um controle positivo, como por exemplo a imipramina, para garantir a ausência de efeitos se deve a eficácia da droga e não por algum comprometimento no teste. Isso não foi realizado porque o teste do nado forçado é um teste padronizado no laboratório há muito tempo, de tal forma que através da média dos animais veículos já era possível avaliar se algo de anormal teria acontecido no experimento; sendo assim optou-se por não submeter cerca de 80 animais a um tratamento considerado, naquele momento, desnecessário.

2) Os efeitos das drogas foram avaliados apenas em animais de uma mesma linhagem submetidos a um único modelo preditivo de efeito antidepressivo, o teste do nado forçado. Como a maioria das drogas não promoveram efeito no teste do nado forçado, as mesmas drogas deveriam ser testadas em outro modelo, como por exemplo o teste de suspensão da cauda, e/ou em diferentes linhagens.

3) Diante da informação que o nível basal de estresse parece ser importante para a eficácia de drogas inibidoras da enzima FAAH, as drogas deveriam ser testadas em animais previamente submetidos a estresse para avaliar se o mesmo favoreceria ou prejudicaria o efeito das drogas testadas no teste do nado forçado.

Referências

8. REFERÊNCIAS

- ABDELHAMID, R. E. *et al.* Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors. **Pharmacological Research** v. 79, p. 21–27 , 2014.
- ABEL, E. L. Physiological correlates of the forced swim test in rats. **Physiology and Behavior**. v. 54, n. 2, p. 317 , 1993.
- ABEL, E. L. Circannual changes in the duration of the immobility response of rats in the forced swim test. **Physiology and Behavior** v. 58, n. 3, p. 591–593 , 1995.
- ABELAIRA, H. M; RÉUS, G. Z; QUEVEDO, J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Revista brasileira de psiquiatria** v. 35 Suppl 2, p. S112-20 , 2013.
- ADAMCZYK, P. *et al.* Activation of endocannabinoid transmission induces antidepressant-like effects in rats. **Journal of Physiology and Pharmacology** v. 59, n. 2, p. 217–228 , 2008.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-5 Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. Porto Alegre: Artmed, 2014, p. 155-188.
- AMIRI, S. *et al.* NMDA receptors are involved in the antidepressant-like effects of capsaicin following amphetamine withdrawal in male mice. **Neuroscience** v. 329, p. 122–133 , 2016.
- BAMBICO, F. R. *et al.* The fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 modulates serotonin-dependent emotional behaviour , and serotonin 1A and serotonin 2A / C activity in the hippocampus. **European Neuropsychopharmacology** v. 26, n. 3, p. 1–13 , 2015.
- BAMBICO, F. R. *et al.* Genetic deletion of fatty acid amide hydrolase alters emotional behavior and serotonergic transmission in the dorsal raphe, prefrontal cortex, and hippocampus. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology** v. 35, n. 10, p. 2083–100 , 2010.
- BATISTA, L. A. *et al.* Effects of alprazolam and cannabinoid-related compounds in an animal model of panic attack. **Behavioural Brain Research** v. 317, p. 508–514 , 2017.
- BISOGNO, T. *et al.* Arachidonoylserotonin and Other Novel Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase. **Biochemical and biophysical research communications** v. 248, n. 3, p. 515–22 , 1998.
- BORTOLATO, M. *et al.* Antidepressant-like Activity of the Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor URB597 in a Rat Model of Chronic Mild Stress. **Biological**

Psychiatry v. 62, p.1103-1110 , 2007.

BORTOLATO, M. *et al.* Anxiolytic-like properties of the anandamide transport inhibitor AM404. **Neuropsychopharmacology** v. 31, n. 12, p. 2652–2659 , 2006.

BOWLES, N. P. *et al.* Chronic, noninvasive glucocorticoid administration suppresses limbic endocannabinoid signaling in mice. **Neuroscience** v. 204, p. 83–89 , 2012.

CAMPOS, A. C. *et al.* Facilitation of endocannabinoid effects in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behaviors depending on previous stress experience. **Neuroscience** v. 167, n. 2, p. 238–246 , 2010.

CASPI, A. *et al.* Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science (New York, N.Y.)** v. 301, n. 5631, p. 386–389 , 2003.

CHRISTENSEN, R. *et al.* Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. **Lancet** v. 370, n. 9600, p. 1706–1713 , 2007.

COSTA, B. *et al.* The dual fatty acid amide hydrolase/TRPV1 blocker, N-arachidonoyl-serotonin, relieves carrageenan-induced inflammation and hyperalgesia in mice. **Pharmacological Research** v. 61, n. 6, p. 537–546 , 2010.

CRABBE, J. C.; WAHLSTEN, D.; DUDEK, B. C. Genetics of Mouse Behavior: Interactions with Laboratory Environment. **Science** v. 284, n. 5420, p. 1670–1672 , 1999.

CRISTINO, L. *et al.* Immunohistochemical localization of cannabinoid type 1 and vanilloid transient receptor potential vanilloid type 1 receptors in the mouse brain. **Neuroscience** v. 139, n. 4, p. 1405–1415 , 2006.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** v. 29, n. 4–5, p. 571–625 , 2005.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends Pharmacol. Sci.** v. 23, n. 5, p. 238–245 , 2002.

DE LAGO, E. *et al.* Effect of repeated systemic administration of selective inhibitors of endocannabinoid inactivation on rat brain endocannabinoid levels. **Biochemical Pharmacology** v. 70, n. 3, p. 446–452 , 2005.

DEVANE, W. A. *et al.* Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. **SCIENCE** v. 258, p. 1946-1949, 1992.

DI MARZO, V. A. brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. **Trends in Pharmacological Sciences** v. 27, n. 3, p. 134–140 , 2006.

DOMSCHKE, K. *et al.* Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene: Impact on antidepressant treatment response and emotion processing in Major Depression. **European Neuropsychopharmacology** v. 18, n. 10, p. 751–759 , 2008.

DUBREUCQ, S. *et al.* Genetic Dissection of the Role of Cannabinoid Type-1 Receptors in the Emotional Consequences of Repeated Social Stress in Mice. **Neuropsychopharmacology** v. 37, n. 8, p. 1885–1900, 2012.

DUMAN, C. H. Models of depression. **Vitamins and hormones** v. 82, n. 10, p. 1–21 , 2010.

CHESLER, E. J. *et al.* Influences of laboratory environment on behavior. **Nature neuroscience** v. 5, n. 11, p. 1101–1102 , 2002.

FOGAÇA, M. V. *et al.* Involvement of M1 and CB1 receptors in the anxiogenic-like effects induced by neostigmine injected into the rat prelimbic medial prefrontal cortex. **Psychopharmacology** v. 233, n. 8, p. 1377–1385 , 2016.

FOGAÇA, M. V. *et al.* The endocannabinoid and endovanilloid systems interact in the rat prelimbic medial prefrontal cortex to control anxiety-like behavior. **Neuropharmacology** v. 63, n. 2, p. 202–210 , 2012.

FOWLER, C. J. *et al.* Inhibition of fatty acid amidohydrolase, the enzyme responsible for the metabolism of the endocannabinoid anandamide, by analogues of arachidonoyl-serotonin. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry** v. 18, n. 3, p. 225–231 , 2003.

FOWLER, C. J. The potential of inhibitors of endocannabinoid metabolism as anxiolytic and antidepressive drugs-A practical view. **European Neuropsychopharmacology** v. 25, n. 6, p. 749–762 , 2015.

GOBBI, G *et al.* Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v. 102, n. 51, p. 18620–18625 , 2005.

GOBIRA, P. H. *et al.* N-arachidonoyl-serotonin, a dual FAAH and TRPV1 blocker, inhibits the retrieval of contextual fear memory: Role of the cannabinoid CB1 receptor in the dorsal hippocampus. **Journal of Psychopharmacology** v. 31, n. 6, p. 750–756 , 2017.

GORZALKA, B. B.; HILL, M. N.; HILLARD, C. J. Regulation of endocannabinoid signaling by stress: Implications for stress-related affective disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** v. 32, n. 6, p. 1152–1160 , 2008.

GUNTHORPE, M. J. *et al.* Identification and characterisation of SB-366791, a potent and selective vanilloid receptor (VR1/TRPV1) antagonist. **Neuropharmacology** v. 46, n. 1, p. 133–149 , 2004.

HABERSTICK, B. C. *et al.* Depression, stressful life events, and the impact of variation in the serotonin transporter: Findings from the national longitudinal study of adolescent to adult health. **PLoS ONE** v. 11, n. 3, p. 1–13 , 2016.

HAKIMIZADEH, E *et al.* Endocannabinoid system and TRPV1 receptors in the dorsal hippocampus of the rats modulate anxiety-like behaviors. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences** v. 15, n. 3, p. 795–802 , 2012.

HAYASE, T. Differential effects of TRPV1 receptor ligands against nicotine-induced depression-like behaviors. **BMC pharmacology** v. 11, n. 6, p. 1-11 , 2011.

HERKENHAM, M *et al.* Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience** v. 11, n. 2, p. 563–583 , 1991.

HILL, M. N. *et al.* Recruitment of Prefrontal Cortical Endocannabinoid Signaling by Glucocorticoids Contributes to Termination of the Stress Response. **Journal of Neuroscience** v. 31, n. 29, p. 10506–10515 , 2011.

HILL, M. N. *et al.* Downregulation of endocannabinoid signaling in the hippocampus following chronic unpredictable stress. **Neuropsychopharmacology** v. 30, n. 3, p. 508–515 , 2005.

HILL, M. N. *et al.* Regional alterations in the endocannabinoid system in an animal model of depression: Effects of concurrent antidepressant treatment. **Journal of Neurochemistry** v. 106, n. 6, p. 2322–2336 , 2008.

HILL, M. N. *et al.* The Therapeutic Potential of the Endocannabinoid System for the Development of a Novel Class of Antidepressants. **Trends in Pharmacological Sciences** v. 30, n. 9, p. 484–493 , 2009.

HILL, M. N.; GORZALKA, B. B. Pharmacological enhancement of cannabinoid CB1 receptor activity elicits an antidepressant-like response in the rat forced swim test. **European Neuropsychopharmacology** v. 15, n. 6, p. 593–599 , 2005.

HILL, M. N.; MCEWEN, B. S. Involvement of the endocannabinoid system in the neurobehavioural effects of stress and glucocorticoids. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry** v. 34, n. 5, p. 791–797 , 2010.

HOWLETT, A C *et al.* International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. **Pharmacological reviews** v. 54, n. 2, p. 161–202 , 2002.

JOHN, C. S.; CURRIE, P. J. N-Arachidonoyl-serotonin in the basolateral amygdala increases anxiolytic behavior in the elevated plus maze. **Behavioural Brain Research** v. 233, n. 2, p. 382–388 , 2012.

JUHASZ, G. *et al.* CNR1 gene is associated with high neuroticism and low agreeableness and interacts with recent negative life events to predict current depressive symptoms. **Neuropsychopharmacology** v. 34, n. 8, p. 2019–27 , 2009.

KACZOCHA, M *et al.* Anandamide uptake is consistent with rate-limited diffusion and is regulated by the degree of its hydrolysis by fatty acid amide hydrolase. **Journal of Biological Chemistry** v. 281, n. 14, p. 9066–9075 , 2006..

KANO, M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. **Physiol Rev** v. 89, p. 309–380 , 2009.

KENDLER, K. S.; *et al.* A Swedish National Twin Study of Lifetime Major Depression. **Am J Psychiatry** v. 163, n. 1, p. 109–114 , 2006.

KENDLER, K. S.; GARDNER, C. O. Depressive vulnerability, stressful life events and episode onset of major depression: a longitudinal model. **Psychological Medicine** p. 1–10 , 2016.

KENDLER, K. S.; GARDNER, C. O. Dependent Stressful Life Events and Prior Depressive Episodes in the prediction of major depression. **Arch Gen Psychiatry** v. 67, n. 11, p. 1120–1127 , 2010.

KENDLER, K. S.; KARKOWSKI, L. M.; PRESCOTT, C. A. Causal Relationship Between Stressful Life Events and the Onset of Major Depression. **Am J Psychiatry** v. 156, n. 6, p. 837–841 , 1999.

KIRKEDAL, C *et al.* A dual inhibitor of FAAH and TRPV1 channels shows dose-dependent effect on depression-like behaviour in rats. **Acta Neuropsychiatrica** v.6, p.324-329, 2017.

KRUK-SLOMKA, M.; MICHALAK, A.; BIALA, G. Antidepressant-like effects of the cannabinoid receptor ligands in the forced swimming test in mice: Mechanism of action and possible interactions with cholinergic system. **Behavioural Brain Research** v. 284, p. 24–36 , 2015.

LISBOA, S. F. *et al.* Cannabinoid CB1 receptors in the dorsal hippocampus and prelimbic medial prefrontal cortex modulate anxiety-like behavior in rats: Additional evidence. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry** v. 59, p. 76–83 , 2015.

LLORENTE-BERZAL, A. *et al.* Neurobehavioral and metabolic long-term consequences of neonatal maternal deprivation stress and adolescent olanzapine treatment in male and female rats. **Neuropharmacology** v. 62, n. 3,

p. 1332–1341 , 2012.

LLORENTE, R. *et al.* Gender-dependent cellular and biochemical effects of maternal deprivation on the hippocampus of neonatal rats: A possible role for the endocannabinoid system. **Developmental Neurobiology** v. 68, n. 11, p. 1334–1347 , 2008.

MAIONE, S. *et al.* Analgesic actions of N-arachidonoyl-serotonin, a fatty acid amide hydrolase inhibitor with antagonistic activity at vanilloid TRPV1 receptors. **British journal of pharmacology** v. 150, n. 6, p. 766–81 , 2007.

MARCO, E M *et al.* Consequences of early life stress on the expression of endocannabinoid-related genes in the rat brain. **Behav Pharmacol** v. 25, n. 5–6, p. 547–556 , 2014.

MARCO, E. M. *et al.* Emotional, endocrine and brain anandamide response to social challenge in infant male rats. **Psychoneuroendocrinology** v. 38, n. 10, p. 2152–2162 , 2013.

MARCO, E. M. *et al.* Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. **Neuropharmacology** v. 68, p. 223–231 , 2013b.

MARTIN, M. *et al.* Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behaviour. **Psychopharmacology** v. 159, n. 4, p. 379–387, 2002.

HILL, M. N. *et al.* Serum Endocannabinoid Content is Altered in Females with Depressive Disorders: A Preliminary Report. **Pharmacopsychiatry** v. 41, n. 2, p. 48–53 , 2012.

HILL, M. N. *et al.* Circulating Endocannabinoids and N-Acyl Ethanolamines Are Differentially Regulated in Major Depression and Following Exposure to Social Stress. **Psychoneuroendocrinology** v. 34, n. 8, p. 1257–1262 , 2010.

MCLAUGHLIN, R. J. *et al.* Upregulation of CB1 receptor binding in the ventromedial prefrontal cortex promotes proactive stress-coping strategies following chronic stress exposure. **Behavioural Brain Research** v. 237, n. 1, p. 333–337 , 2013.

MCLAUGHLIN, R. J. *et al.* Local enhancement of cannabinoid CB1 receptor signalling in the dorsal hippocampus elicits an antidepressant-like effect. **Behavioural pharmacology** v. 18, n. 5–6, p. 431–438 , 2007.

MCLAUGHLIN, R. J; HILL, M. N.; GORZALKA, B. B. Neuroscience and Biobehavioral Reviews A critical role for prefrontocortical endocannabinoid signaling in the regulation of stress and emotional behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** v. 42, p. 116–131 , 2014.

MICALE, V. *et al.* Anxiolytic effects in mice of a dual blocker of fatty acid amide

hydrolase and transient receptor potential vanilloid type-1 channels. **Neuropsychopharmacology** v. 34, p. 593–606 , 2009.

MOREIRA, F. A. *et al.* Cannabinoid type 1 receptors and transient receptor potential vanilloid type 1 channels in fear and anxiety-two sides of one coin? **Neuroscience** v. 204, p. 186–192 , 2012.

MOREIRA, F. A. *et al.* Reduced anxiety-like behaviour induced by genetic and pharmacological inhibition of the endocannabinoid-degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) is mediated by CB1 receptors. **Neuropharmacology** v. 54 , p. 141-150, 2008.

MOREIRA, F. A. *et al.* Endocannabinoids and striatal function. **Behavioural Pharmacology** v. 26, p. 59–72 , 2015.

MOREIRA, F. A.; LUTZ, B. The endocannabinoid system: emotion, learning and addiction. **Addiction Biology** v. 13, n. 2, p. 196–212, 2008.

MOREIRA, F. A.; AGUIAR, D. C.; GUIMARÃES, F. S. Anxiolytic-like effect of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. **Neuropharmacology** v. 52, n. 3, p. 958–965 , 2007.

MORENA, M *et al.* Neurobiological interactions between stress and the endocannabinoid system. **Neuropsychopharmacology** v. 41, n. 1, p. 80–102 , 2016.

MUNRO, S; THOMAS, K L; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature** v. 365, n. 6441, p. 61–65 , 1993.

NAVARRIA, A. *et al.* The dual blocker of FAAH/TRPV1 N-arachidonoylserotonin reverses the behavioral despair induced by stress in rats and modulates the HPA-axis. **Pharmacological research** v. 87, p. 1–9 , 2014.

ONAIVI, E. S. *et al.* Methods to study the behavioral effects and expression of CB2 cannabinoid receptor and its gene transcripts in the chronic mild stress model of depression. **Methods in molecular medicine** v. 123, p. 291–8 , 2006.

ONAIVI, E. S. *et al.* Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: From mice to human subjects. **PLoS ONE** v. 3, n. 2 , 2008.

ORTAR, G. *et al.* New N -Arachidonoylserotonin Analogues with Potential “ Dual ” Mechanism of Action against Pain. **Journal of Medicinal Chemistry** v. 50, n. 26, p. 6554–6569 , 2007.

PARONE, P. A. *et al.* Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes and astrocytomas. v. 58, n. 1, p. 1017–1030 , 2013.

PATEL, S. *et al.* Inhibition of restraint stress-induced neural and behavioural activation by endogenous cannabinoid signalling. **European Journal of**

Neuroscience v. 21, n. 4, p. 1057–1069 , 2005.

POLLAK, D. D.; REY, C. E.; MONJE, F. J. Rodent models in depression research: Classical strategies and new directions. **Annals of Medicine** v. 42, n. 4, p. 252–264 , 2010.

PORSOLT, R. D. *et al.* Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European journal of pharmacology** v. 47, n. 4, p. 379–391 , 1978.

PORSOLT, R D; LE PICHON, M; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature** v. 266, n. 5604, p. 730–732 , 1977.

POST, R. Transduction of Psychosocial of Neurobiology of Recurrent Affective Disorder. **Am J Psychiatry** v. 149, p. 999–1010 , 1992.

RADEMACHER, D. J. *et al.* Effects of acute and repeated restraint stress on endocannabinoid content in the amygdala, ventral striatum, and medial prefrontal cortex in mice. **Neuropharmacology** v. 54, n. 1, p. 108–116 , 2008.

RIBEIRO, A. *et al.* Dose-response effects of systemic anandamide administration in mice sequentially submitted to the open field and elevated plus-maze tests. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 42, n. 6, p. 556–560 , 2009.

ROMANO-LÓPEZ, A. *et al.* Maternal separation and proclivity for ethanol intake: A potential role of the endocannabinoid system in rats. **Neuroscience** v. 223, p. 296–304 , 2012.

ROSS, R. A. *et al.* Structure-activity relationship for the endogenous cannabinoid, anandamide, and certain of its analogues at vanilloid receptors in transfected cells and vas deferens. **British Journal of Pharmacology** v. 132, n. 3, p. 631–640 , 2001.

ROSS, R. A. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. **British journal of pharmacology** v. 140, n. 5, p. 790–801, 2003.

RUBINO, T. *et al.* Role in anxiety behavior of the endocannabinoid system in the prefrontal cortex. **Cerebral Cortex** v. 18, n. 6, p. 1292–1301 , 2008.

SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F. A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide : novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão? Pharmacological exploitation of the endocannabinoid system : new perspectives for the treatment of depression and anxiety? **Revista Brasileira de Psiquiatria** v. 32, p. 7–14 , 2010.

SARTIM, A. G., MOREIRA, F. A., JOCA, S. R. L. Involvement of CB1 and TRPV1 receptors located in the ventral medial prefrontal cortex in the modulation of

stress coping behavior. **Neuroscience** v. 340, p. 126–134, 2016.

SAVEANU, R. V.; NEMEROFF, C. B. Etiology of Depression: Genetic and Environmental Factors. **Psychiatric Clinics of North America** v. 35, n. 1, p. 51–71, 2012.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. The ups and downs of modelling mood disorders in rodents. **ILAR Journal** v. 55, n. 2, p. 297–309, 2014.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature Protocols** v. 7, n. 6, p. 1009–1014, 2012.

SOCALA, K.; WLAŻ, P. Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like activity of α -spinasterol, a plant derivative with TRPV1 antagonism effects, in mice. **Behavioural Brain Research** v. 303, p. 19-25, 2016.

STAROWICZ, K.; NIGAM, S.; DI MARZO, V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. **Pharmacology and Therapeutics** v. 114, n. 1, p. 13–33, 2007.

SUÁREZ, J. *et al.* Early maternal deprivation induces gender-dependent changes on the expression of hippocampal CB1 and CB2 cannabinoid receptors of neonatal rats. **Hippocampus** v. 19, n. 7, p. 623–632, 2009.

SUGIURA, T *et al.* 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 215, n. 1, p. 89-97, 1995.

SULLIVAN, P. F.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. Genetic epidemiology of major depression: Review and meta-analysis. **American Journal of Psychiatry** v. 157, n. 10, p. 1552–1562, 2000.

SUMAN, P. R. *et al.* Failure to detect the action of antidepressants in the forced swim test in Swiss mice. **Acta Neuropsychiatrica** p. 1–10, 2017.

TILLMANN, S. Mind the gap – towards complete and transparent reporting of animal research. **Medical Writing** v. 26, n. 4, p. 24–27, 2017.

TOPOL, E. J. *et al.* Rimonabant for prevention of cardiovascular events (CRESCENDO): A randomised, multicentre, placebo-controlled trial. **The Lancet** v. 376, n. 9740, p. 517–523, 2010.

TÓTH, A. *et al.* Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain. **Molecular Brain Research** v. 135, n. 1–2, p. 162–168, 2005.

TÓTH, A.; BLUMBERG, P. M.; BOCZÁN, J. Chapter 15 Anandamide and the Vanilloid Receptor (TRPV1). **Vitamins and Hormones** v. 81, p. 389–419, 2009.

VILELA, L. R *et al.* Anticonvulsant Effects of N -Arachidonoyl-Serotonin, a Dual Fatty Acid Amide Hydrolase Enzyme and Transient Receptor Potential Vanilloid

Type-1 (TRPV1) Channel Blocker, on Experimental Seizures : The Roles of Cannabinoid CB1 Receptors and TRPV1 Channels. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology** v. 1, p. 330–334 , 2014.

WANG, S. E. *et al.* TRPV1 Regulates Stress Responses through HDAC2. **Cell Reports** v. 19, n. 2, p. 401–412 , 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Mental disorders**. 2015. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/en/> > Acessado em 10 de outubro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global burden of mental disorders and the need for a comprehensive, coordinated response from health and social sectors at the country level. p. 1–6 , 2011. Disponível em: <http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB130/B130_9-en.pdf>.

YAN, H. C. *et al.* Behavioral animal models of depression. **Neuroscience bulletin** v. 26, n. 4, p. 327–337 , 2010.

YIN, X.; GUVEN, N.; DIETIS, N. Stress-based animal models of depression: Do we actually know what we are doing? **Brain Research** v. 1652, p. 30–42 , 2016.

YOU, I. J. *et al.* Alterations in the emotional and memory behavioral phenotypes of transient receptor potential vanilloid type 1-deficient mice are mediated by changes in expression of 5-HT 1A, GABA A, and NMDA receptors. **Neuropharmacology** v. 62, n. 2, p. 1034–1043 , 2012.